Aus dem Anatomischen Institut der Universität Basel

(Vorsteher: Prof. Dr. med. et phil. G. Wolf-Heidegger)

Arbeit unter Leitung von Prof. Dr. med. K. S. Ludwig

Der Einfluß von Vitamin-A-Mangel und -Überdosierung auf das Ovar geschlechtsreifer Ratten

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung der Doktorwürde der gesamten Heilkunde

der Medizinischen Fakultät der Universität Basel

vorgelegt von

Christel Geiger

von Basel

1967

Druck: Universitätsdruckerei H. Stürtz AG, Würzburg 1968

Von der Medizinischen Fakultät Basel
genehmigt auf Antrag von

Prof. Dr. K. S. Ludwig

Tag der Promotion: 28. Juni 1967

Erschienen im Archiv für Gynäkologie Vol. 206, pag. 411—430 (1968)
J. F. Bergmann·München
1968

Archiv für Gynäkologie 206, 411—430 (1968)

Der Einfluß von Vitamin A-Mangel und Überdosierung auf das Ovar geschlechtsreifer Ratten*

Christel Geiger

Anatomisches Institut der Universität Basel
(Vorsteher: Prof. Dr. med. et phil. G. Wolf-Heidegger**)

Eingegangen am 21. Mai 1968

The Influence of Vitamin A Deficiency and Overdose on the Ovaries of Pubescent Rats

Summary. The transformation of the ruptured ovarian follicle into a mature corpus luteum in general occurs identically in control animals, A-hypervitaminotic and A-deficient animals. But there are differences in regard to the time of the individual events and to the intensity of the processes.

In A-hypervitaminotic animals there is an accelerated occlusion of the rupture point. Vascularisation of the wall and subsequent organization of the fibrin containing cavity occurs more rapidly. The hyperemia, typical for the mature corpus luteum, is starting earlier and increases significantly with progression of age.

In A-hypovitaminotic animals there is delayed occlusion of the rupture point and a sluggish vascularization of the wall. The hyperemia is starting later and subsides at a moment which still shows pronounced hyperemia in control animals and hypervitaminotic animals.

The number of the atretic follicles is decreased in A-hypervitaminotic animals in comparison to control animals, in A-deficient animals markedly increased, however.

Zusammenfassung. Die Umwandlung des gesprungenen Ovarialfollikels in ein reifes Corpus luteum geht bei den Kontrollen, den A-hypervitaminotischen Tieren und den Mangeltieren generell gleich vor sich. Doch finden sich Unterschiede im zeitlichen Ablauf der einzelnen Vorgänge und in der Intensität der Erscheinungen.

Bei den A-hypervitaminotischen Tieren kommt es zu einem beschleunigten Verschluß des Sprungloches. Die Vascularisierung der Wand und die anschließende Organisation des Fibrinkerns gehen rascher vor sich. Die für das reife Corpus luteum typische Hyperämie setzt früher ein und erfährt mit zunehmendem Alter eine massive Steigerung.

Bei den A-hypovitaminotischen Tieren finden wir einen verzögerten Verschluß des Sprungloches und eine verlangsamte Vascularisierung der Wand. Die Hyperämie setzt später ein und verschwindet zu einem Zeitpunkt, in dem bei den Kontrollen und den hypervitaminotischen Tieren noch eine deutliche Blutfülle vorhanden ist.

Die Zahl der atretischen Follikel ist bei den A-hypervitaminotischen Tieren im Vergleich zu den Kontrollen vermindert, bei den Mangeltieren dagegen stark erhöht.

* Die Untersuchungen wurden durch einen Beitrag der Ford Foundation (Grant No. 63-HIC) ermöglicht.

** Arbeit unter der Leitung von Prof. Dr. med. K. S. Ludwig.

Einleitung

In der Literatur über die bei Vitamin A-Mangel oder -Überdosierung auftretenden morphologischen Veränderungen an den Organen geschlechtsreifer Ratten wird angegeben, daß die an den Ovarien erhobenen Befunde mit denjenigen an Kontrolltieren übereinstimmen (Mason, 1935; Zbinden und Studer, 1958).

Da es sich im Verlauf der in den hiesigen Laboratorien durchgeführten Untersuchungen über den Einfluß des Vitamin A auf Befruchtung und Segmentation gezeigt hat, daß schon in diesen frühen Entwicklungsstadien Abweichungen von der normalen Entwicklung auftreten, haben wir uns die Frage vorgelegt, ob sich nicht doch Veränderungen der Ovarien, insbesondere der Corpora lutea bei Vitamin A-Mangel oder -Überdosierung feststellen lassen. Im folgenden berichten wir über die Ergebnisse.

Material und Technik

Für unsere Untersuchungen standen uns insgesamt 76 geschlechtsreife weibliche Ratten (vgl. Tabelle) zur Verfügung[1]. In die Versuchsserien wurden nur Tiere aufgenommen, die schon einmal Junge geworfen hatten. Die Kontrolltiere sowie die hypervitaminotischen Tiere erhielten normales Standardfutter (Z 101 + 102 der Firma Hoffmann-La Roche) und Salat. Die Hypervitaminose wurde dadurch erzielt, daß man mit Beginn des Oestrus an 3 aufeinanderfolgenden Tagen je 250000 IE Vitamin A-acetat in 0,5 ml Arachisoel per os verabreichte, bereits am 2. oder 3. Tag während der Dosierung wurde über Nacht gepaart. Die Vitamin A-freie Diät war dieselbe, die Miličić (1962) beschrieben hat. Nachdem deutliche Mangelsymptome aufgetreten waren, erfolgte jeweils über Nacht die Paarung.

Nachdem die Tiere aller 3 Gruppen über Nacht mit den Männchen zusammen gewesen waren, wurden am nächsten Morgen Vaginalausstriche gemacht. Bei Auffinden von Spermien narkotisierte man die Ratten 10—11, 15, 20, 32—35, 40, 60, 64—65, 80, 85, 90, 105, 110, 115 sowie 125 Std (vgl. Tabelle) nach der errechneten Ovulation, präparierte die Ovarien, Tuben und Uterushörner heraus und tötete anschließend die Tiere. In Tyrodelösung wurden die Ovarien mit Hilfe einer binocularen Lupe von den Tuben abpräpariert, vom anhängenden Fettgewebe befreit und in Carnoy-Lösung fixiert. Die Einbettung erfolgte in der üblichen Weise über Methylbenzoat in Paraffin. Von jedem Block stellte man eine lückenlose Schnittserie von 7 μ Dicke her. Die Schnitte wurden alternierend nach folgenden Methoden gefärbt: Azan, Gömöri, PAS-Reaktion, Methylgrün-Pyronin sowie der Glykogenreaktion nach Bauer.

Eigene Befunde

A. Allgemeines

1. Kontrolltiere. Die Ovarien zeigen einen lappigen Bau und eine deutliche Trennung in Rinde und Mark. Die Rinde, deren freie Oberfläche von teils kubischen, teils platten Zellen des Keimepithels überzogen

[1] Der Firma F. Hoffmann-La Roche & Co. AG, Basel, möchten wir für die Überlassung der Tiere sowie deren Pflege und Wartung unseren besten Dank aussprechen.

UNIV. LEIDEN BIBL.

Tabelle

Anzahl Stunden nach der Ovulation	Anzahl Tiere pro Gruppe		
	Kontrollen	A-Überdosierung	A-Mangel
10—11	2	3	2
15	2	3	1
20	1	1	1
32—35	2	3	4
40	1	2	2
57			1
60	1	4	4
64—65	2	3	2
80	1	2	2
85			3
90		1	1
105	4	4	1
110	2	4	1
115	1		
125	1	1	
Anzahl Tiere pro Versuchsserie	20	31	25

wird, enthält, dicht gepackt, viele Follikel in allen Entwicklungsstadien, eine große Zahl von Gelbkörpern, mäßig viele, in Gruppen beieinanderliegende atretische Follikel (vgl. Abb. 7a) und wenige Primärfollikel. Das subcapsuläre Stroma erscheint teilweise dicht, teilweise lockerer strukturiert. Kleine Gruppen von pigmenthaltigen, im Azanpräparat goldgelben Zellen sind verschiedentlich in der Rinde anzutreffen.

Das Mark ist größtenteils locker gebaut und erscheint demnach hell. In diesem locker gefügten Gewebe liegen Gruppen von großen Zellen, die in sich geschlossene, kleine Nester bilden. Mesovar und Mark zeigen 10 Std nach dem Follikelsprung eine mäßige Hyperämie, die mit steigender Stundenzahl zunimmt. 40 Std nach der Ovulation tritt plötzlich eine massive Hyperämie mit Extravasaten auf. Mit zunehmender Stundenzahl geht die Blutfülle wieder etwas zurück, und auch die Extravasate verschwinden langsam. In den Corpora lutea tritt die Hyperämie etwas später auf als in Mark und Mesovar, nämlich erst nach 64 Std und erfährt weiterhin eine Steigerung.

2. A-hypervitaminotische Tiere. Die Ovarien sind generell größer als die der Kontrolltiere und ebenfalls deutlich unterteilt in Rinde und Mark. Die Rinde, deren freie Oberfläche das Keimepithel mit platten, in den Buchten mit kubischen Zellen überzieht, enthält viele große Corpora lutea, viele Sekundärfollikel, wenige atretische Follikel (vgl. Abb. 7b), die teils lockere Gruppen bilden, teils vereinzelt vorkommen, und nicht sehr viele

Primärfollikel. Gruppen von pigmenthaltigen, großen Zellen kommen verschiedentlich vor. In einigen Präparaten sind traubige Ansammlungen von Fettgewebe in der Rinde zu beobachten.

Auffällig ist das außerordentlich locker gebaute Mark. Darin liegen Nester von großen Zellen, die z. T. in kleinen Gruppen, z. T. nur zu zweit oder zu dritt stehen. Dieses Innengewebe dringt nicht bis zum Keimepithel vor.

Sehr eindrücklich ist die Blutfülle des Organs. 10 Std und 15 Std nach der Ovulation ist im Mark und im Mesovar eine starke Hyperämie zu sehen, und ab 35 Std nach dem Follikelsprung sind in jedem Präparat außerordentlich dilatierte Gefäße und massive Extravasate zu beobachten. Diese Blutfülle hält unverändert bis zu den letzten untersuchten Ovarien, 105 Std nach der Ovulation, an. Diese außerordentliche Hyperämie erstreckt sich ab 60 Std auch auf die jungen Corpora lutea (vgl. Abb. 3a), deren Blutreichtum ausgeprägter ist als bei den Kontrolltieren. Sogar sehr alte, in Regression befindliche Gelbkörper sind in die Hyperämie miteinbezogen.

3. A-hypovitaminotische Tiere. Die einzelnen Strukturen der sehr kleinen Ovarien liegen dicht beieinander. Die Unterteilung in Rinde und Mark ist verwischt. Das Stroma der äußersten Rindenzone ist bei der überwiegenden Mehrzahl dichter gebaut und reicher an kollagenen Fasern als in den Ovarien der Kontrolltiere. Das Keimepithel zeigt mehrheitlich kubische Zellformen. Die Zahl der Primärfollikel, der Sekundärfollikel und der jungen Corpora lutea scheint geringer zu sein als bei den Kontrollen. Dagegen finden sich sehr viele atretische Follikel, in Konglomeraten beieinanderliegend, in verschiedenen Abschnitten der Rinde (vgl. Abb. 7c). Sie bilden mit dem Zwischengewebe die Hauptmasse der Ovarien. Die alten Corpora lutea sind auffallend klein. Die jungen Gelbkörper sind ebenfalls von etwas geringerer Größe als bei den Kontrollen, doch gleicht sich mit zunehmendem Alter ihre Größe aus, was unter anderem auf die einsetzende Hyperämie zurückzuführen ist. In der Rinde und mit Vorliebe in der Gegend alter Corpora lutea und atretischer Follikel finden sich im Azanpräparat auffallend häufig goldgelb angefärbte Gruppen von pigmenthaltigen Zellen.

Das Mark ist dicht strukturiert. Es ist reich an Zellen und kollagenen Fasern und enthält auch viele Bündel glatter Muskelzellen.

Mesovar und Mark zeigen ab 10 Std nach der Ovulation eine mäßige Hyperämie mit nur in seltenen Fällen kleinen Extravasaten. Beide Erscheinungen nehmen 80—85 Std nach dem Follikelsprung stark zu. Bei höheren Stundenzahlen verschwinden die Extravasate wieder, und die Blutfülle geht zurück. In den Corpora lutea verschwindet die Hyperämie rascher als im Mark (vgl. Abb. 4c).

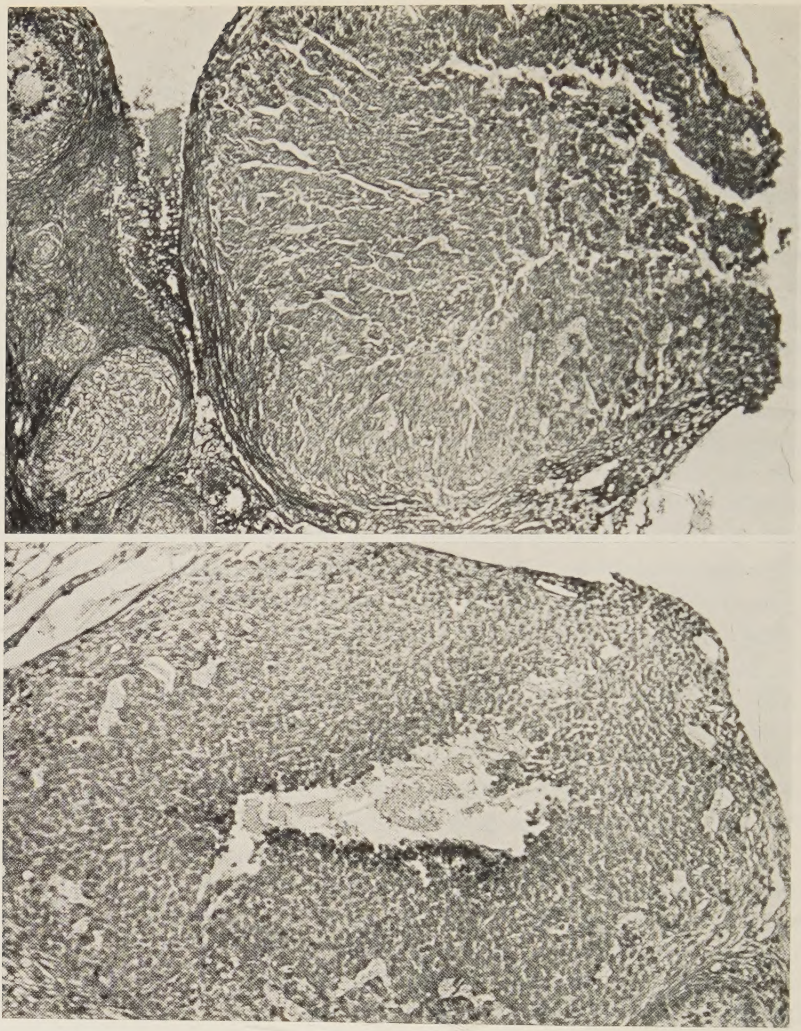
B. Corpora lutea

a) Corpora lutea 10—11 Std nach der Ovulation

1. Kontrolltiere (Abb. 1a). Das sich bildende Corpus luteum besitzt noch ein weit klaffendes Sprungloch. Seine Ränder werden von Teilen der Granulosazellschicht nach außen hin umgriffen. Die ehemalige Liquorhöhle ist beinahe ganz ausgefüllt von einem PAS-positiven Gemisch aus Fibrin und geronnenem Liquor sowie von Erythrocyten und vielen Granulosazellen, die sich aus dem Verband losgelöst und abgerundet haben. Die letzteren zeigen Zeichen des Zellunterganges wie Verklumpungen des Chromatins und unscharfe Cytoplasmaränder. Das sich bildende Corpus luteum wird von einer bindegewebigen Kapsel, der ehemaligen Theca folliculi, scharf gegen das umgebende Gewebe abgegrenzt. Mancherorts weichen die Bindegewebszüge auseinander, um englumige Blutgefäße und wenige kleine Gruppen von Thecazellen zu umfassen. Gegen das Sprungloch hin sind die Gefäße stark dilatiert und mit Erythrocyten angeschoppt. Durch die aus der Theca vordringenden Gefäßsprossen ist beinahe die Hälfte der Granulosazellschicht vascularisiert. Jede Zelle in der schon vascularisierten Zone wird von einem argyrophilen Netzwerk umhüllt. Durch die Sinusoide werden die Granulosazellen auseinandergedrängt und zu plumpen Balken geordnet. Gegen die Liquorhöhle besteht die Wand aus einer dichten Tapete von Granulosazellen, die wegen der engen Lagerung polygonale Gestalt aufweisen. Im Methylgrün-Pyronin-Präparat besitzt ihr Cytoplasma rosa gefärbte Granulationen. In den rundlichen bis ovalen Zellkernen, deren Membran sehr deutlich ist, sind das Chromatingerüst blaß blaugrün und die Nucleoli leuchtend rot gefärbt (vgl. Abb. 6a). In der Granulosazellschicht finden sich einige Mitosen.

2. A-hypervitaminotische Tiere (Abb. 1b). Die Entwicklung des Gelbkörpers ist etwas weiter fortgeschritten als bei den Kontrollen. Das Sprungloch ist noch erkennbar, doch ist es schon im Begriff, sich zu schließen. Nur ein capillarer, von Granulosazellen begrenzter Spalt verbindet die freie Oberfläche mit der Liquorhöhle. Die von der Theca interna her vordringenden Gefäßsprossen haben etwa einen Drittel der Granulosazellschicht vascularisiert. Im gefäßhaltigen Bereich ist jede Granulosazelle von einem feinen Gitterfasernetz umhüllt. In der Granulosa sind weniger Mitosen zu sehen als bei den Kontrollen.

3. A-hypovitaminotische Tiere (Abb. 1c). Die Entwicklung des Corpus luteum ist bei den Mangeltieren weniger weit fortgeschritten als bei den Kontrollen. Das Sprungloch klafft noch weit. Die von innen zapfenartig vorstoßende Granulosa wird seitlich von dicht aneinanderliegenden weiten Gefäßen begleitet. Durch die einwachsenden Gefäßsprossen ist bis jetzt erst ein Viertel der Granulosazellschicht vascularisiert. Jede an das Gefäßsystem angeschlossene Granulosazelle ist von einer Gitterfaserhülle um-



a

b

Abb. 1 a u. b. Corpora lutea 10—11 Std nach Ovulation. Vergr. 125 ×. a Kontrolltier R 607, Schnitt 6/2/3, 11 Std nach Ovulation, Färbung: Azan. Das Sprungloch ist zu sehen. Von innen stoßen pfropfartig Teile der Granulosazellschicht vor und umgreifen die unterbrochenen Kapselränder nach außen. b A-hypervitaminotisches Tier R 733, Schnitt 1/2/4, 10 Std nach Ovulation, Färbung: Azan. Das Sprungloch ist nur noch ein capillarer Spalt

geben. Die zirkulären Kapselzüge des Gelbkörpers sind in ihrem tiefen, gegen das Mark des Ovars gelegenen Teil straff und lassen in den Zwischenräumen nur die spindeligen Zellen erkennen, während die gegen die Ovaroberfläche gelegenen Züge lockerer gebaut sind und des öfteren auseinan-

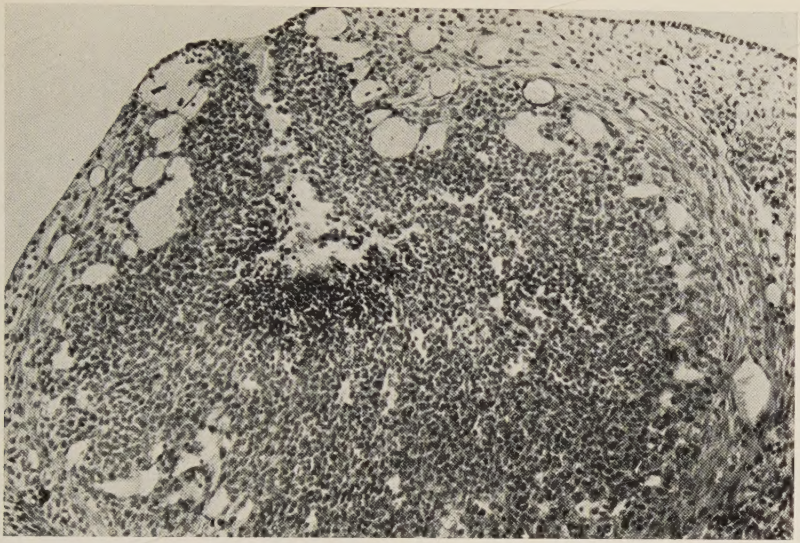


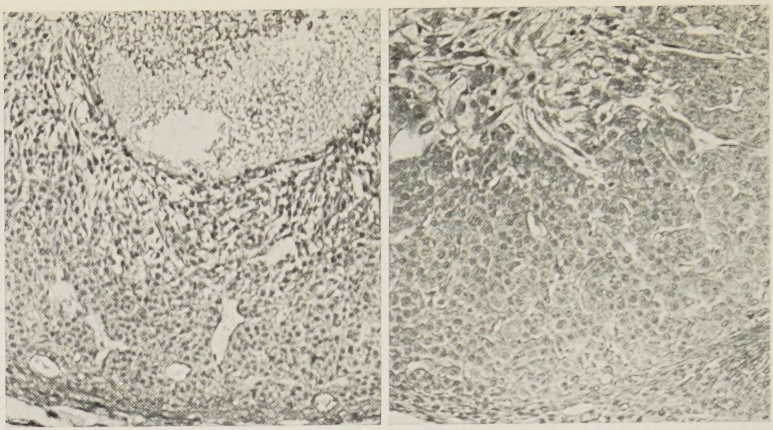
Abb. 1c. A-hypovitaminotisches Tier R 756, Schnitt 3/7/4, 10 Std nach Ovulation. Färbung: PAS-Reaktion. Das Sprungloch kommuniziert mit der kleinen Liquorhöhle. Beidseits wird die anstoßende Granulosazellschicht von dilatierten Gefäßräumen begrenzt

derweichen, um Gefäße oder Gruppen von Thecazellen zu umfassen. In der Granulosazellschicht sind etwa gleich viele Mitosen vorhanden wie bei den Kontrollen.

b) Corpora lutea 15—20 Std nach der Ovulation

1. Kontrolltiere. Erst 20 Std nach der Ovulation ist das Sprungloch bindegewebig verschlossen. Das Keimepithel hat seine Kontinuität wiederhergestellt. Es besteht aus platten Zellen. Die ehemalige Follikelhöhle liegt exzentrisch und enthält den mit Erythrocyten durchsetzten Fibrinkern. Die Granulosazellschicht wird von weiten, mit Blut gefüllten Sinusoiden durchzogen. Die Gefäße haben teilweise den Fibrinkern erreicht. An diesen Stellen werden die Granulosazellen gegen die Höhle hin von einem zarten Gitterfaserfilz begrenzt. Die Gefäße in der Granulosazellschicht grenzen breite und plumpe Zellbalken gegeneinander ab. Die zwischen den Gefäßsträngen gelegenen Granulosazellen sind größer geworden und weisen ein helles, granuliertes Cytoplasma auf. In der Granulosazellschicht sind keine Mitosen mehr vorhanden.

2. A-hypervitaminotische Tiere. Schon 15 Std nach der Ovulation ist das Sprungloch bindegewebig verschlossen. Das Keimepithel besteht über der Narbe aus platten Zellen mit spindelförmigen Kernen, in den angrenzenden Gebieten dagegen aus kubischen Zellen. Die Gefäße in der Kapsel



a b

Abb. 2a u. b. Die Organisation der Corpora lutea bei A-hypervitaminotischen Tieren 20—35 Std nach Ovulation. Färbung: Azan. Vergr. 125 ×. a Ratte R 790, Schnitt 1/11/4, 20 Std nach Ovulation. Das mit den Gefäßsprossen vordringende Bindegewebe hat die ganze Wand durchsetzt und beginnt mit der Organisation der Höhle. b Ratte R 765, Schnitt 6/3/5, 35 Std nach Ovulation. Die bindegewebige Organisation der Höhle ist beendet. Das Parenchym macht noch einen kompakten Eindruck

sind weit und blutreich. Die ganze Granulosazellschicht ist jetzt vascularisiert (Abb. 2a). Das mit den Gefäßen vorgedrungene Bindegewebe bildet an der Oberfläche der Granulosazellschicht gegen die Resthöhle hin eine Faserschicht, in der zahlreiche Fibrocyten enthalten sind (Abb. 2a). Die zwischen den Gefäßen liegenden Granulosazellen sind größer geworden. Ihr Cytoplasma ist heller und läßt Granulationen erkennen. In der Granulosazellschicht ist keine Mitose festzustellen.

3. A-hypovitaminotische Tiere. Das Sprungloch ist noch nicht durch Bindegewebe verschlossen. Die Kapsel ist relativ kompakt. Die Vascularisation der Granulosazellschicht ist nur wenig weiter fortgeschritten im Vergleich zu einem Corpus luteum 10 Std nach der Ovulation, jedoch sind die Lumina der Sinusoide weiter. Stellenweise sind die zwischen den Gefäßen gelegenen Granulosazellen größer geworden. Ihr Cytoplasma färbt sich heller an und ist granuliert. In der Granulosazellschicht finden sich noch Mitosen.

c) Corpora lutea 32—40 Std nach der Ovulation

1. Kontrolltiere. Erst 40 Std nach der Ovulation hat das von der Theca her zwischen den Granulosazellen vorgewachsene Bindegewebe den Fibrinkern vollständig organisiert. Es enthält zahlreiche sternförmig verzweigte Fibrocyten und einzelne freie Zellen (vgl. Abb. 2b). Die Zahl der Sinusoide hat in der Granulosazellschicht zugenommen. Durch ihre jetzt vorwiegend

radiäre Anordnung werden die dazwischenliegenden Granulosazellen zu Balken geordnet, die mehrere Zellen breit sind. Die Zellen in den 2—3 der Theca anliegenden Granulosalagen sind mit ihrem Längsdurchmesser parallel zur Kapsel orientiert und bilden zirkuläre Züge. Erst die darüberliegenden Zellschichten leiten zur radiären Struktur der Trabekel über. Die Zellen sind gesamthaft größer geworden. Ihre Grenzen sind undeutlich. Das Cytoplasma dieser aufgetriebenen Zellen erscheint gröber granuliert und läßt stellenweise helle, tropfige Aussparungen erkennen. In der Methylgrün-Pyronin-Färbung erscheinen die Kerne blasser als in jüngeren Stadien. In der bindegewebigen Kapsel finden sich zahlreiche stark erweiterte Gefäße.

2. A-hypervitaminotische Tiere. Bereits 35 Std nach der Ovulation hat das von der Theca her zwischen den Granulosazellen vorgewachsene Bindegewebe den Fibrinkern vollständig organisiert. Es finden sich zahlreiche sternförmig verzweigte Fibrocyten und einzelne freie Zellen (Abb. 2b). 40 Std nach der Ovulation sind in diesem Organisationsgewebe Gefäße nachweisbar (vgl. Abb. 3a). Die Sinusoide, deren Zahl zugenommen hat, sind weitlumig. Da sie mehrheitlich radiär verlaufen, ordnen sich die dazwischenliegenden Granulosazellen in Balken, welche nur wenige Zellen breit sind. Die Anordnung der Granulosazellen mit peripheren zirkulären Zügen und zentralwärts radiärer Ausrichtung der Zellen ist gleich wie bei den Kontrollen. Die Zellen der ganzen Granulosaschicht sind größer geworden, doch haben die zentral gelegenen Zellen noch nicht die Volumina der peripheren erreicht. In einigen der voluminösen Zellen sind neben den gröber gewordenen Granulationen helle, tropfige Aussparungen zu erkennen. Auffallend sind die in Methylgrün-Pyronin-Präparaten außerordentlich grossen, leuchtend roten Nucleoli, die sehr oft langgezogene, fast polyedrische Formen besitzen. Im übrigen erscheinen die Kerne blasser als in den jüngeren Stadien. In der bindegewebigen Kapsel sind die zahlreichen Gefäße stark erweitert.

3. A-hypovitaminotische Tiere. Erst 35 Std nach der Ovulation ist das Sprungloch bindegewebig verschlossen. Das Keimepithel besteht über der Narbe aus platten, in den angrenzenden Gebieten aus kubischen Zellen. Die Sinusoide, deren Zahl stark zugenommen hat, sind bis zum Fibrinkern vorgedrungen, welcher gegen die Granulosazellschicht durch einen Gitterfaserfilz begrenzt wird. Die bindegewebige Organisation des Fibrinkerns ist erst 40 Std nach der Ovulation vollständig. Doch sind zu diesem Zeitpunkt im Organisationsgewebe noch keine Gefäße erkennbar. Da einige Sinusoide im Bereich der Granulosazellschicht radiär angeordnet sind, ist stellenweise die Trabekelstruktur dieser Schicht verwirklicht, doch sind die Sinusoide noch eng und die Zellbalken plump und dick. Die Anordnung der Granulosazellen mit peripheren zirkulären Zügen und zentralwärts radiärer Ausrichtung der Zellen ist gleich wie bei den Kontrollen.

Die Granulosazellen haben über die ganze Wanddicke an Größe zugenommen. In einigen Zellen lassen sich im Cytoplasma neben den gröber gewordenen Granulationen tropfige Aufhellungen erkennen. In der bindegewebigen Kapsel sind noch keine erweiterten Gefäße festzustellen.

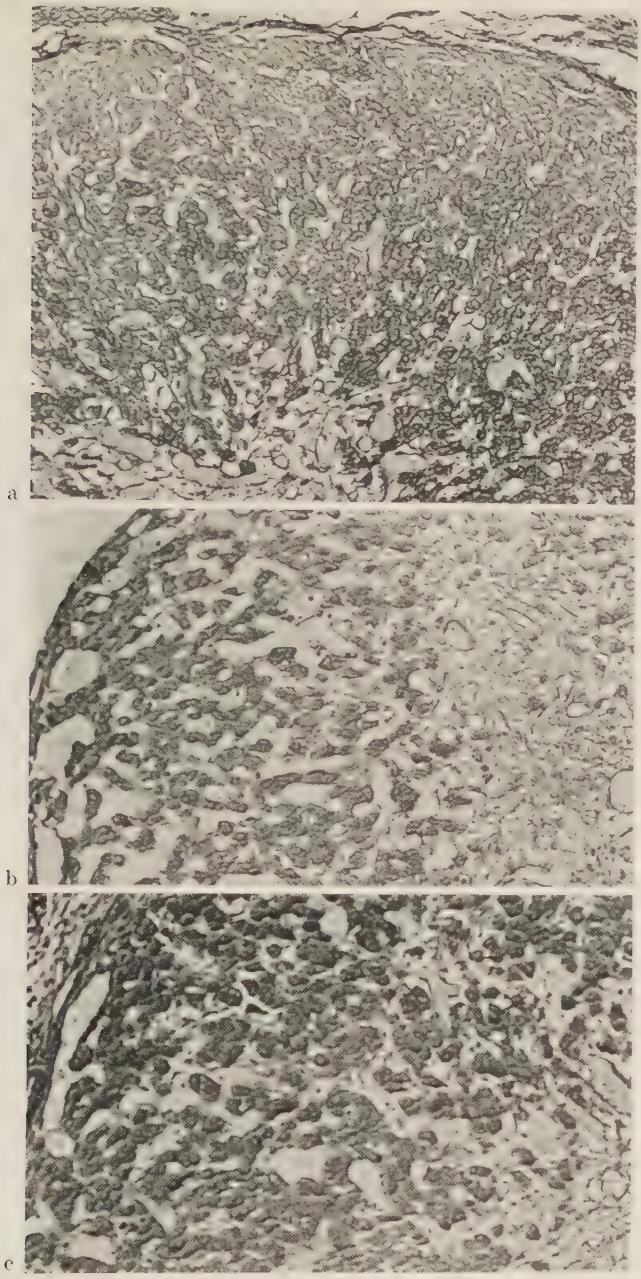
d) Corpora lutea 60—64 Std nach der Ovulation

1. Kontrolltiere. Die Blutfülle des Corpus luteum ist auffällig. Die Sinusoide reichen jetzt bis in den Bindegewebskern hinein, sind stark dilatiert und mit Erythrocyten angefüllt. Dabei nimmt der Blutreichtum kontinuierlich von der Peripherie gegen das Innere hin zu, d. h. im äußeren Viertel der Granulosazellschicht sind die Sinusoide enger, und ihre Lumina nehmen gegen den Fibrinkern hin zu. Die Granulosaluteinzellen sind in den äußeren Wandschichten deutlich voneinander abzugrenzen, während ihre Grenzen gegen den Bindegewebskern zu verwischen. Im Azanpräparat fallen die hellen Flecken im Cytoplasma der Granulosazellen auf, die von dunkelroten, groben Granulationen regelmäßig oder unregelmäßig begrenzt werden. Da der Kern in dieser Färbung ebenfalls gröbere rote Granulationen enthält, und auch der Nucleolus rot erscheint, tritt der Kern innerhalb der Zelle kaum hervor (vgl. Abb. 5a). Im Methylgrün-Pyronin-Präparat färben sich die Zellkerne nur noch sehr schwach blaugrün an. Einzig die Nucleoli treten scharf rot hervor (vgl. Abb. 6b).

2. A-hypervitaminotische Tiere (Abb. 3a). Auch in diesen Gelbkörpern hat die Blutfülle weiter zugenommen. Die Kapselzüge umfassen an der Basis weite Gefäße, deren Zusammenhang mit den dilatierten Markgefäßen zu verfolgen ist. Das noch feinmaschigere, dreidimensionale Schwammwerk der Sinusoide hat die Granulosaluteinzellen auseinander gedrängt und die Balken auf die Breite von nur 1 –3 Zellen reduziert. In der ganzen Granulosaschicht sind die Zellgrenzen mehr oder weniger gut zu erkennen, manchmal, besonders zentral, sind sie allerdings undeutlich. Wie bei den Kontrollen treten die granulierten Kerne innerhalb der grobgekörnten Zelleiber kaum hervor (vgl. Abb. 5b). Im Methylgrün-Pyronin-Präparat sind die Kerne außerordentlich blaß angefärbt (vgl. Abb. 6b).

3. A-hypovitaminotische Tiere. Erst 60 Std nach der Ovulation ist der typische Bau einer inkretorischen Drüse verwirklicht. Die Kapsel ist im Gegensatz zu den Kontrollen und den hypervitaminotischen Tieren kompakt und enthält nur wenige schmale Gefäße. Die Zahl der Sinusoide hat

Abb. 3a—c. Hyperämie des Corpus luteum 60–85 Std nach Ovulation. Färbung: Azan. Vergr. 125 ×. a A-hypervitaminotisches Tier R 742, Schnitt 6/4/2, 60 Std nach Ovulation. Die Hyperämie hat eingesetzt. b A-hypervitaminotisches Tier R 783, Schnitt 1/4/7, 80 Std nach Ovulation. Die Hyperämie ist stärker geworden. Die Bluträume sind teilweise weiter als die dazwischenliegenden Granulosaluteinzellbalken.



c A-hypovitaminotisches Tier R 766, Schnitt 1/6/3, 85 Std nach Ovulation. Die Hyperämie hat eben eingesetzt. Dabei ist das Fehlen der Blutfülle der intracapsulären Blutleiter zu beachten

zugenommen. Die dazwischengelegenen Granulosaluteinzellbalken sind auf die Breite weniger Zellen reduziert. Doch diese sinusartigen Gefäße, die jetzt auch den Bindegewebskern durchziehen, sind schmal, so daß das Drüsenparenchym einen ziemlich kompakten Eindruck macht. Die einzelnen Granulosaluteinzellen sind nur gegen das ehemalige Sprungloch hin deutlich voneinander abzugrenzen. In den übrigen Sektoren sind die Zellgrenzen verwischt und nicht auszumachen. Die Granulosaluteinzellen zeigen ebenfalls das grobkörnige Cytoplasma mit hellen, feintropfigen Aussparungen (vgl. Abb. 5c). Die Kerne sind jedoch im Methylgrün-Pyronin-Präparat noch nicht ausgesprochen blaß angefärbt.

e) Corpora lutea 80—85 Std nach der Ovulation

1. Kontrolltiere. Die Kapselzüge weichen über weite Strecken auseinander und umgreifen viele Gefäßräume. Die Zahl der Sinusoide hat stark zugenommen, so daß die dazwischenliegenden Granulosaluteinzellbalken z. T. nur 1 oder 2 Zellen breit sind. Die Zellgrenzen sind jetzt bis in die zentralen Regionen deutlich zu erkennen. Durch die groben Granulationen und die vielen hellen Aussparungen sieht das Cytoplasma der Granulosaluteinzellen wie gescheckt aus (vgl. Abb. 5a).

2. A-hypervitaminotische Tiere (Abb. 3b). Die Hyperämie ist außerordentlich stark und viel ausgeprägter als bei den Kontrollen. Die Sinusoide sind weiter als die zwischen ihnen gelegenen Balken (vgl. Abb. 5b), die größtenteils auf eine Zellbreite reduziert worden sind. Intra- und subcapsulär sind die Gefäße besonders weit. Die Zahl der Aufhellungen im Cytoplasma der Granulosaluteinzellen hat zugenommen. Infolge der groben Granulation haben diese Zellen ein gescheckes Aussehen (Abb. 5b). In einigen Zellen finden sich die groben Granulationen nur in der Zellperipherie. Die Kerne sind dann von einem hellen Hof umgeben.

3. A-hypovitaminotische Tiere (Abb. 3c). 80 Std nach der Ovulation hat die Blutfülle im Corpus luteum sowie die Zahl der Sinusoide zugenommen. Die Gefäßlumina sind weiter geworden, doch in viel geringerem Maße als bei den Kontrollen. Im Gegensatz zu den Kontrollen und A-hypervitaminotischen Tieren setzt die Hyperämie des Corpus luteum erst 85 Std nach der Ovulation ein (Abb. 3c). Die Sinusoide sind stark dilatiert, wobei von der Peripherie zum Bindegewebskern eine Zunahme der Luminaweite festgestellt werden kann. Durch die große Zahl der Gefäßräume sind die

Abb. 4a—c. Corpora lutea 105 Std nach Ovulation. Färbung: Azan. Vergr. 125×. a Kontrolltier 605, Schnitt 6/2/3. Die Blutfülle hat besonders in den intra- und extracapsulären Gefäßen zugenommen. b A-hypervitaminotisches Tier R 734, Schnitt 1/4/2. Die Hyperämie ist besonders ausgeprägt in den intra- und subcapsulären Blutleitern. Die zentralen Gefäßräume nehmen in ihrem Bau Venencharakter an. c A-hypovitaminotisches Tier R 762, Schnitt 1/7/1. Die Hyperämie ist zurückgegangen, was zu einem Kollabieren der Sinusoide und zu einer unregelmäßigen Kontur der Kapsel geführt hat

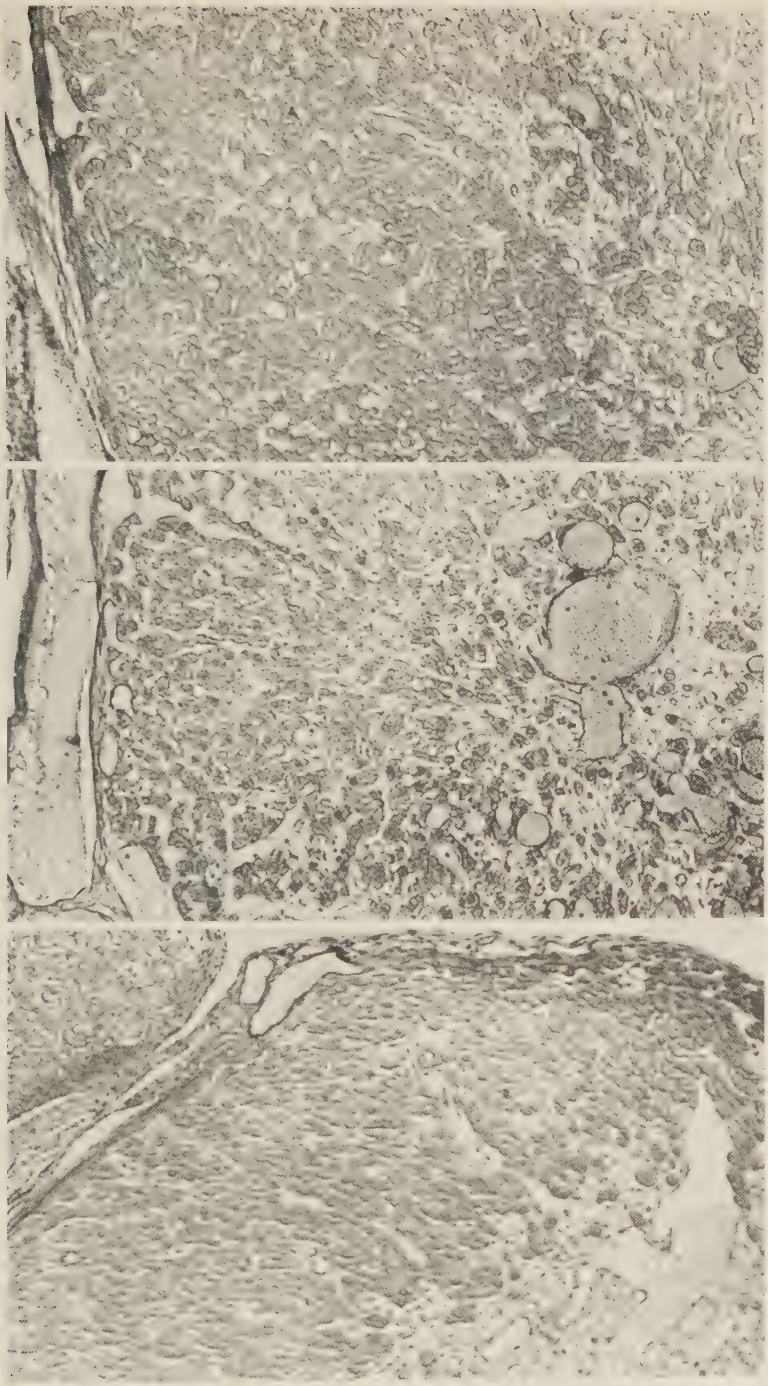


Abb. 4a—c

Trabekel in kleine Zellgruppen oder einzelne Granulosaluteinzellen aufgelöst worden. Die Granulationen im Kerninnern sind gröber geworden, doch erreichen sie nicht die Größe wie bei den Kontrolltieren. Da sie sich im Azanpräparat rot anfärben, fallen die Kerne innerhalb des ebenfalls rot gekörnten Cytoplasmas kaum auf (Abb. 3c). Die bei den Kontrollen nach 64 Std und bei den A-hypervitaminotischen Tieren nach 60 Std zu beobachtende ausgesprochen blasse Färbung der Zellkerne im Methylgrün-Pyronin-Präparat ist bei den Mangeltieren erst jetzt festzustellen (vgl. Abb. 6b). Die Kapsel ist immer noch sehr dicht, und ihre Züge umfassen nur wenige schmale Gefäße.

f) Corpora lutea 105 Std nach der Ovulation

1. Kontrolltiere (Abb. 4a). Die Blutfülle ist außerordentlich stark. Die Kapsel umfaßt weite Blutgefäße, die die äußeren Kapselzüge und das Keimepithel vorbuchten. Durch die starke Zunahme der Sinusoide und die parallel dazu verlaufende Vermehrung des Bindegewebes ist das Balkenwerk der Granulosaluteinzellen auseinandergerissen worden, und viele Zellen stehen allein. In ihrem Cytoplasma sind grobe Granulationen zu sehen, die manchmal kleinen Brocken gleichkommen (Abb. 5a). In Kernnähe sieht man in einigen Zellen helle Vacuolen, doch ist ihre Zahl nicht groß (Abb. 5a). Im Methylgrün-Pyronin-Präparat fallen im Vergleich zu den blaß gefärbten Kernen der Granulosaluteinzellen die vielen kräftig gefärbten der Bindegewebszellen auf (Abb. 6b). Sie besitzen kleine, rote Nucleolen.

2 A-hypervitaminotische Tiere (Abb. 4b). Die Blutfülle ist noch auffallender als 80 Std nach der Ovulation, wobei sich besonders intracapsulär weite, die Oberfläche ausbuchtende Blutleiter finden. Gegen und im Bindegewebskern sind stark dilatierte Gefäßräume zu sehen, deren Wandbau schon Venencharakter aufweist. Auffallend sind in diesem Stadium die vielen Lymphocyten im Corpus luteum. Sie befinden sich intravasal und intercellulär. Auch hier fallen im Gegensatz zu den im Methylgrün-Pyronin-Präparat blassen Granulosaluteinzellkernen die intensiv sich anfärbenden der Bindegewebszellen auf (vgl. Abb. 6b).

3. A-hypovitaminotische Tiere (Abb. 4c). Die starke Hyperämie ist verschwunden. Wegen der kollabierten Sinusoide stehen die Granulosazellen wieder dichter beieinander. Die Kapsel des Corpus luteum ist entspannt und in große Falten gelegt. Nur der Bindegewebskern enthält noch sehr weite, stark blutgefüllte Gefäßräume. Die Granulosaluteinzellen lassen sich nicht sehr deutlich voneinander abgrenzen. In ihrem Cytoplasma sind Granulationen enthalten, die aber die Größe derjenigen der Kontrolltiere nicht erreichen. Einige Zellen sind von kleinen, hellen Vacuolen durchsetzt. Auch hier fallen im Methylgrün-Pyronin-Präparat neben den blassen Kernen die dunkel angefärbten Bindegewebszellkerne auf. Im Gegen-

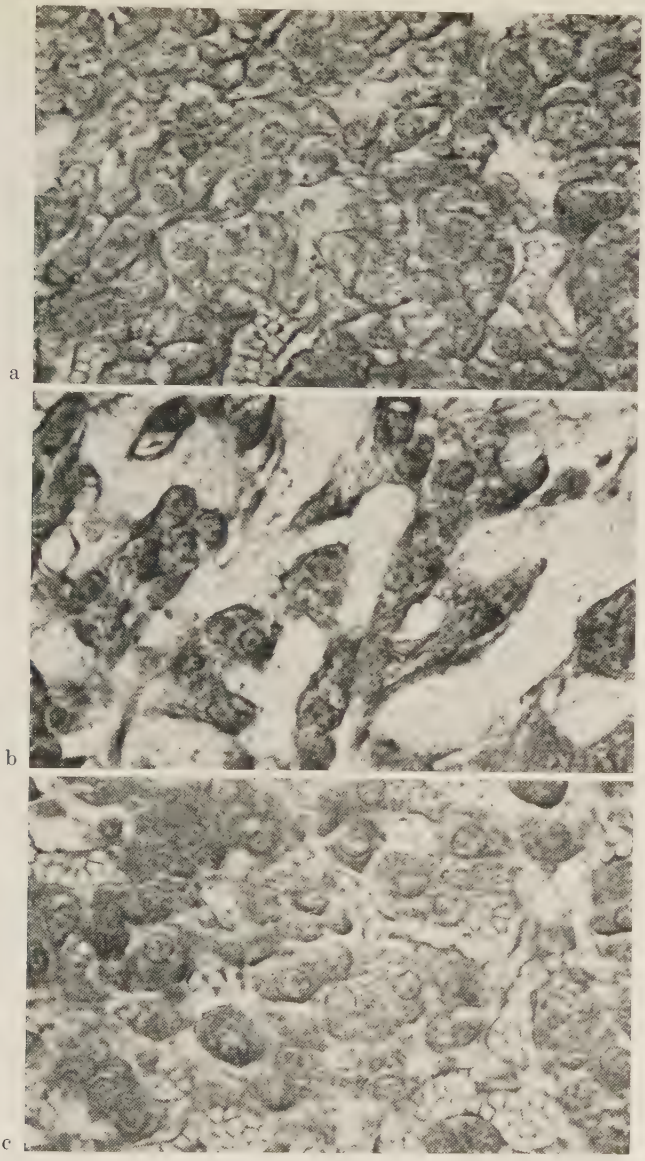
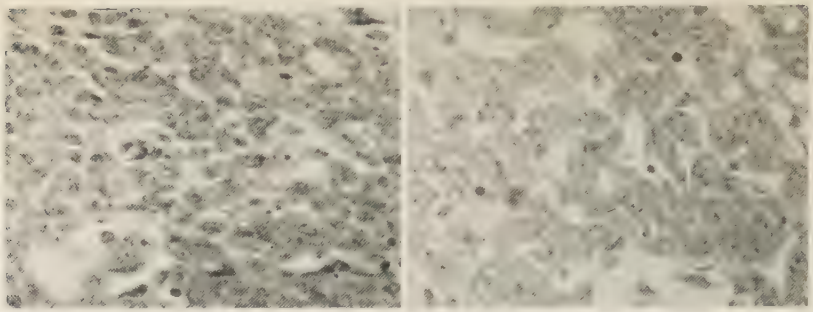


Abb. 5. a Kontrolltier R 605, Schnitt 6/2/3, 105 Std nach Ovulation, Färbung: Azan. Vergr. 510 ×. Im Cytoplasma der Granulosaluteinzellen sind die groben Granulationen zu sehen, die feintropfige Aufhellungen umfassen. Der Kern tritt innerhalb der Zelle kaum hervor. b A-hypervitaminotisches Tier R 783, Schnitt 1/4/7, 80 Std nach Ovulation. Färbung: Azan. Vergr. 510 ×. Man beachte die außerordentlich weiten Sinusoide, die in ihrem Durchmesser die Breite der dazwischengelegenen Zellbalken übertreffen. c A-hypovitaminotisches Tier R 766, Schnitt 1/6/3, 85 Std nach Ovulation. Färbung: Azan. Vergr. 510 ×



a b

Abb. 6a u. b. Die Basophilie der Granulosaluteinzellen bei Kontrolltieren 11 und 105 Std nach Ovulation. Färbung: Methylgrün-Pyronin. Vergr. 320 ×. a Kontrolltier R 607, Schnitt 9/2/3, 11 Std nach Ovulation. Das Cytoplasma der Zellen färbt sich stark rosa an. In den Kernen sind neben den roten Nucleoli dunkelgrünblaue Chromatinschollen zu erkennen. b Kontrolltier R 605, Schnitt 9 1 5, 105 Std nach Ovulation. Das Cytoplasma färbt sich nur noch blaß rosa an. In den ebenfalls blaß angefärbten Kernen sind die dunkeln Chromatinschollen verschwunden

satz zu dem kollabierten und blutarm gewordenen Corpus luteum tritt die starke Hyperämie der Markgefäße in den Vordergrund.

C. Follikelatresie

1. Kontrolltiere (Abb. 7a). Unter der Organkapsel oder in tieferen Rindenschichten finden sich kleine Gruppen von 8—15 atretischen Tertiärfollikeln. Diese Follikel liegen dicht beieinander und werden sowohl gegenseitig durch ihre Lagerung wie auch durch anliegende Corpora lutea oder Follikel verformt, wobei sie zu länglichen Gebilden ausgezogen werden. Sie sind sehr leicht an den rundlichen, zentralen Höhlen zu erkennen, in denen sich PAS-positive Reste des Liquors finden können. Je nach Alter enthalten sie noch Reste der Granulosazellschicht. Die Höhle wird von der ehemaligen Basalmembran der Granulosazellen begrenzt. Diese ist stark verdickt, verläuft leicht wellig und enthält spindelige Bindegewebszellen. Im Azanpräparat färbt sie sich leuchtend blau. Nach außen folgen mehrere Schichten von blasig aufgetriebenen, dicht gelagerten Thecazellen mit hellem, wabigem Cytoplasma. Im Methylgrün-Pyronin-Präparat sind die rundlich-ovalen Kerne blaugrün gefärbt. Sie enthalten Chromatinschollen und einen leuchtend roten Nucleolus. Jede einzelne dieser Zellen ist von einem Gitterfasernetz umhüllt, das kontinuierlich mit der verdickten Basalmembran und den zirkulären kollagenen und retikulären Faserzügen zusammenhängt, die den atretischen Follikel umgeben.

2. A-hypervitaminotische Tiere (Abb. 7b). Das Aussehen der atretischen Follikel ist prinzipiell dasselbe wie bei den Kontrolltieren, doch ist ihre Zahl geringer. Sie liegen in kleinen Gruppen von 3—10 Vertretern

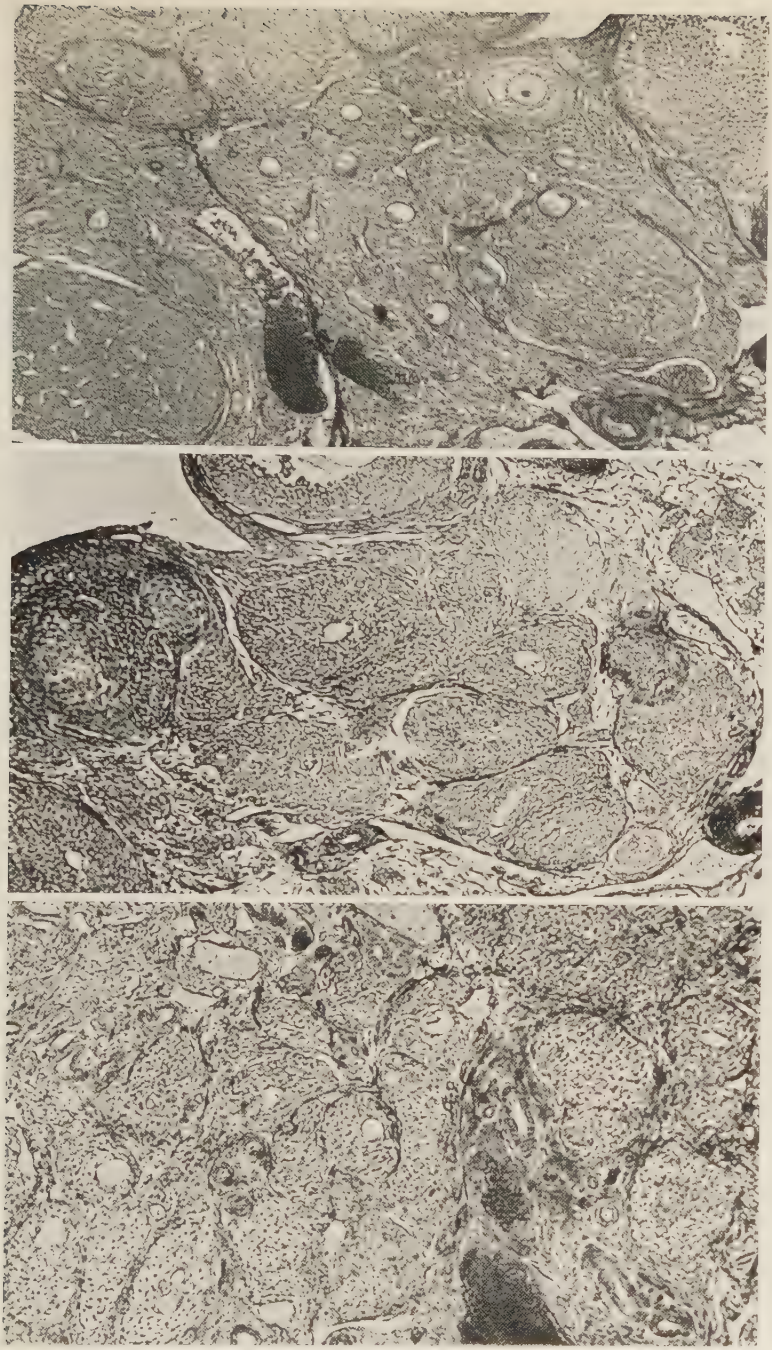


Abb. 7a—c. Atretische Follikel. Färbung: Azan. Vergr. 80 ×. a Kontrolltier R 612, Schnitt 6/2/2. b A-hypervitaminotisches Tier R 733a, Schnitt 6/2/1. c A-hypovitaminotisches Tier R 756, Schnitt 6/2/4

beieinander, wobei ihr Verband nur locker gefügt ist, so daß sie sich gegenseitig kaum verformen. Einige fallen durch ihre Größe auf.

3. A-hypovitaminotische Tiere (Abb. 7c). Die atretischen Follikel, die in sehr großer Zahl (etwa 40—80 auf einem Schnitt) in diesen Ovarien vorkommen, bilden dichte Konglomerate. Diese nehmen große Teile des Organs ein und können als charakteristisches Merkmal dieser Gruppe gelten. Die atretischen Follikel sind z. T. kaum voneinander abzugrenzen, da das sie umgebende Bindegewebe nur schwach ausgebildet ist oder ganz fehlt. Einige von ihnen sind sehr klein und enthalten einen besonders dichten, zusammengeballten kollagenen Kern.

Ergebnisse und Diskussion

Unsere Befunde über die Umwandlung des gesprungenen Follikels in ein reifes Corpus luteum bei den Kontrolltieren stimmen mit den Angaben in der Literatur weitgehend überein (vgl. Cohn, 1903; Corner, 1948; Watzka, 1957; Horowitz, 1967). Bei den hypervitaminotischen und den Mangeltieren läuft die Umwandlung generell gleich ab, doch finden sich Unterschiede im zeitlichen Ablauf der einzelnen Vorgänge und in der Intensität der Erscheinungen.

Bei den *A-hypervitaminotischen Tieren* kann im Vergleich zu den Kontrolltieren von einer Beschleunigung des Umwandlungsprozesses eines gesprungenen Follikels in ein reifes Corpus luteum gesprochen werden. Nach 15 Std ist das Sprungloch bereits bindegewebig verschlossen, während die Kontrolltiere dieses Stadium erst nach 20 Std erreicht haben. Die Organisation der Follikel beginnt bei den Tieren der A-Hypervitaminose-Serie nach 20 Std und ist nach 35 Std beendet, während bei den Kontrollen nach 20 Std erst $^3/_4$ der Wand vascularisiert und von zartem Bindegewebe durchdrungen sind. Zu einer Organisation der Höhle kommt es nach 32 Std, wobei dieser Vorgang nach 40 Std zum Abschluß gebracht ist. Die vollausgebildete, typische inkretorische Drüse haben wir bei beiden Serien nach 40 Std vor uns; bei den A-hypervitaminotischen Tieren sind die Lumina der Sinusoide jedoch weiter als bei den Kontrollen desselben Alters: es setzt bereits die für die reifen Corpora lutea charakteristische Hyperämie ein, die in den Gelbkörpern der hypervitaminotischen Ratten besonders eindrückliche Formen annimmt. Nach 60 Std, bei den Kontrollen erst nach 64 Std, ist die Blutfülle voll ausgebildet. Sie erfährt mit steigendem Alter eine zunehmende Intensivierung, die viel ausgeprägter ist als bei den Kontrolltieren. Nach 80 Std übertreffen die Sinusoide an Weite die zwischen ihnen liegenden Granulosaluteinzellbalken, während bei den Kontrollen solche Dimensionen gar nie erreicht werden. Auch die intracapsulären Gefäße sind in stärkerem Maße dilatiert. Nach 105 Std, zu welchem Zeitpunkt die Hyperämie noch weiter zugenommen hat, fällt eine

Veränderung der sehr umfangreichen, zentralen Sinusoide auf, die in ihrem Bau Venencharakter annehmen. In der Drüse herrscht jetzt eine starke Lymphocytose. Bei älteren Stadien zeigt sich im Gegensatz zu jüngeren ein zunehmendes Blaßwerden der Kerne der Granulosaluteinzellen bei der Färbung mit Methylgrün-Pyronin. Das Verschwinden der dunkelgrünblauen Chromatinschollen ist bei den A-hypervitaminotischen Tieren bereits nach 60 Std verwirklicht, bei den Kontrollen nach 64 Std.

Bei den A-hypervitaminotischen Tieren ist die Anzahl atretischer Follikel geringer als bei den Kontrollen. Sie bilden locker gefügte Verbände. Einige fallen durch ihre Größe auf.

Bei den *A-hypovitaminotischen Tieren* dagegen verzögert sich der Ablauf der verschiedenen Vorgänge: ein vollständiger bindegewebiger Verschluß des Sprungloches ist erst 35 Std nach der Ovulation festzustellen. Die Organisation der Follikelhöhle beginnt nach 35 Std und ist, wie bei den Kontrollen, nach 40 Std beendet. Doch ist der typische Bau einer inkretorischen Drüse mit dem Trabekelbau der Granulosaluteinzellen und den radiär ausgerichteten Sinusoiden erst nach 60 Std verwirklicht, während die Kontrollen dieses Stadium nach 40 Std erreicht haben. Die Hyperämie der Corpora lutea erscheint bei den Kontrollen nach 64 Std, bei den Mangeltieren dagegen tritt sie verspätet, aber sehr massiv, nach 85 Std ein, wobei das Fehlen der starken Blutfülle in den Gefäßen der dichten Kapsel auffällt. Im Gegensatz zu den beiden andern Serien, bei denen die Hyperämie anhält und weiter zunimmt, verschwindet hier der Blutreichtum des Gelbkörpers nach 105 Std, wobei es zu einem Kollabieren der Sinusoide kommt. Merkwürdig ist dabei die Tatsache, daß zu diesem Zeitpunkt die Hyperämie im Mark des Ovars noch besteht. Entsprechend dem verzögerten Ablauf der verschiedenen Vorgänge sind auch die Zellkerne der Granulosaluteinzellen im Methylgrün-Pyronin-Präparat erst nach 80 Std besonders blaß, diejenigen der Kontrollen jedoch schon nach 64 Std.

In der Serie der A-hypovitaminotischen Tiere fällt, im Vergleich zu den Kontrollen, die stark erhöhte Zahl von atretischen Follikeln auf. Diese liegen in dichten Konglomeraten beieinander und bilden große Teile des Ovarialparenchyms. Einige atretische Follikel sind besonders klein.

Die Tatsache, daß nicht qualitative, sondern nur quantitative und zeitliche Unterschiede in der Bildung der Corpora lutea zwischen den Kontrolltieren, den A-hypervitaminotischen sowie den A-avitaminotischen Tieren bestehen, mag dazu geführt haben, daß in der Literatur (Mason, 1935; Zbinden und Studer, 1958) nur der kursorische Hinweis zu finden ist, die Befunde an Corpora lutea von A-hypervitaminotischen und A-avitaminotischen Tieren würden mit denjenigen von Kontrolltieren übereinstimmen.

Literatur

Cohn, F.: Zur Histologie und Histogenese des Corpus luteum und des interstitiellen Ovarialgewebes. Arch. mikr. Anat. **62**, 745—772 (1903).

Corner, G. W.: Alkalische Phosphatase im Follikel und im Corpus luteum. Contrib. Embryol. Carneg. Instn. **32**, 1—8 (1948).

Horowitz, M.: The anovular corpus luteum in the golden hamster (Mesocricetus auratus Waterhouse) and comparisons with the normal corpus luteum and follicle of atresia. Acta anat. (Basel) **66**, 199—225 (1967).

Mason, K. E.: Foetal death, prolonged gestation and difficult parturition in the rat as a result of vitamin A-deficiency. Amer. J. Anat. **57**, 303—349 (1935).

Miličić, M.: Der Einfluß von Vitamin-A-Mangel und -Überdosierung auf Niere, Dünndarm und Leber unter besonderer Berücksichtigung der alkalischen Phosphatase. Acta anat. (Basel) **50**, 312—325 (1962).

Watzka, M.: Das Ovarium. In: v. Möllendorffs Handbuch der mikroskopischen Anatomie des Menschen, Ergänzung zu Bd. VII/1. Berlin-Göttingen-Heidelberg: Springer 1957.

Zbinden, G., u. A. Studer: Tierexperimentelle Untersuchungen über die chronische Verträglichkeit von β-Carotin, Lycopin, 7,7′-Dihydro-β-Carotin und Bixin. Lebensmittel-Untersuchung und -Forsch. **108**, 113—134 (1958).

Fräulein Dr. med. Christel Geiger
Anatomisches Institut der Universität
CH-4056 Basel, Pestalozzistr. 20